

Palmitato de ascorbil e acetato de tocoferol como antioxidantes metabólicos em larvas de dourado

Daniel Okamura⁽¹⁾, Felipe Guedes de Araújo⁽¹⁾, Priscila Viera Rosa Logato⁽¹⁾, Ulisses Simon da Silveira⁽¹⁾, Luis David Solis Murgas⁽²⁾ e Rilke Tadeu Fonseca de Freitas⁽¹⁾

⁽¹⁾Universidade Federal de Lavras (Ufla), Departamento de Zootecnia, Caixa Postal 3.037, CEP 37200-000 Lavras, MG. E-mail: danielokamura@hotmail.com, felipeaquac@yahoo.com.br, priscila@ufla.br, rilke.freitas@pesquisador.cnpq.br ⁽²⁾Ufla, Departamento de Medicina Veterinária. E-mail: lsmurgas@ufla.br

Resumo – O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito e a interação entre a suplementação de palmitato de ascorbil e acetato de tocoferol, na alimentação de larvas de dourado (*Salminus brasiliensis*), durante o seu desenvolvimento inicial. Foi utilizado o delineamento experimental inteiramente ao acaso, com parcelas subdivididas: nas parcelas, em arranjo fatorial (2x3) com seis rações constituídas pela combinação de duas concentrações de acetato de tocoferol (0 e 250 mg kg⁻¹) e três concentrações de palmitato de ascorbil (0, 100 e 1.000 mg kg⁻¹); e, nas subparcelas, com dois períodos de coletas (5 e 15 dias de alimentação). Nas larvas, foram determinadas as concentrações do palmitato de ascorbil, ácido ascórbico e ácido deidroascórbico, comprimento total, peso e altura da cabeça. O palmitato de ascorbil proporcionou aumento no comprimento total e no peso das larvas após 15 dias de alimentação. Foi observada, quanto à altura de cabeça, diferença entre as três dosagens de palmitato de ascorbil testadas. A suplementação de palmitato de ascorbil aumentou todas as concentrações de vitamina C, e apesar de a vitamina E não ter influenciado as medidas de desempenho, ela atuou como pró-oxidante metabólico o que aumentou o ácido deidroascórbico.

Termos para indexação: *Salminus brasiliensis*, ácido deidroascórbico, vitamina C, vitamina E.

Ascorbyl palmitate and tocopherol acetate as metabolic antioxidants in dourado larvae

Abstract – The objective of this work was to evaluate the effect and interaction between supplementation of tocopherol acetate and ascorbyl palmitate, in the diet of dourado larvae (*Salminus brasiliensis*), during its initial development. The experimental design was completely randomized in split plot, as follows: in the plot, a factorial arrangement (2x3) with six diets, constituted by the combination between two concentrations of tocopherol acetate (0 and 250 mg kg⁻¹) and three concentrations of ascorbyl palmitate (0, 100 and 1,000 mg kg⁻¹); and in the subplot, with two periods of sampling (5 and 15 days of feeding). In the larvae, determinations were performed for the concentrations of the ascorbyl palmitate, ascorbic acid and dehydroascorbic acid, total length, weight and height of the head. Ascorbyl palmitate provided an increase in the total length and in the weight of the larvae after 15 days of feeding. For head height, differences were observed among the three doses of tested ascorbyl palmitate. The supplementation of ascorbyl palmitate increased the vitamin C concentrations. Although vitamin E has not influenced the development sizes, it acted as a metabolic pro-oxidant, which increased the dehydroascorbic acid.

Index terms: *Salminus brasiliensis*, dehydroascorbic acid, vitamin C, vitamin E.

Introdução

Atualmente a piscicultura brasileira é deficiente em informações e técnicas referentes ao cultivo intensivo de espécies nativas, o que dificulta o desenvolvimento da produção em larga escala dessas espécies.

O dourado (*Salminus brasiliensis*) é um dos maiores peixes de escama presente nos rios e bacias brasileiras. É considerado um peixe nobre, pois apresenta carne de excelente qualidade, e é, também, muito requisitado em pesque-pague. É uma espécie de grande porte e com um bom potencial de produção (Fracalossi et al., 2004; Mai

& Zaniboni-Filho, 2005). Contudo, há poucos estudos referentes a essa espécie, o que dificulta algumas fases do seu cultivo, principalmente a larvicultura.

A maior dificuldade na adaptação de uma espécie selvagem em cativeiro se concentra na larvicultura. Nesse período, ocorre um rápido desenvolvimento das larvas, o que exige uma boa adaptação do sistema de cultivo (Luz & Zaniboni-Filho, 2002). Em uma produção, são comuns os problemas relacionados à mortalidade e deformidades das larvas e alevinos que, em grande parte, são conseqüências de falhas nutricionais. Algumas deficiências na dieta das pós-larvas podem elevar a ocorrência de distúrbios fisiológicos, o que reflete no desenvolvimento dos peixes (Smith et al., 2004). Esses problemas são acompanhados de uma alta taxa de mortalidade e deformações.

Diversos fatores limnológicos e de manejo são relatados como responsáveis pela má formação e pela alta taxa de mortalidade em pós-larvas. Manter essas variáveis dentro de uma faixa aceitável é muito difícil, quando se trabalha em campo. Esses fatores dificultam a adaptação dos peixes durante a larvicultura, pois atuam como agentes estressores, o que torna essencial o fornecimento de um ótimo aporte nutricional (Kubitza, 1998), principalmente durante a adaptação alimentar de dourados, que apresentam inabilidade em aceitar alimentos inertes (Mai & Zaniboni-Filho, 2005).

Os antioxidantes são nutrientes essenciais na dieta da maioria das espécies de peixes. Os mais utilizados são as vitaminas C e E (Ji et al., 2003). Seus efeitos no metabolismo dos animais são muito explorados, principalmente em peixes na fase de reprodução e pós-larvas (Tocher et al., 2002). Sua essencialidade se deve à ineficiência dos peixes em sintetizar essas vitaminas em quantidades necessárias (Gouillou-Coustans et al., 1998).

Os efeitos das vitaminas C e E sobre o desenvolvimento de larvas de peixe são bem relatados em recentes estudos; suas deficiências estão relacionadas à crescente mortalidade e deformações. Essas vitaminas atuam diretamente no equilíbrio metabólico e osmorregulatório (Hamre et al., 1997), o que possibilita o funcionamento perfeito de órgãos e enzimas. São caracterizadas pelas constantes oxidações e reduções, em que a vitamina C interage regenerando a vitamina E oxidada (Lee & Dabrowski, 2003), o que mantém a integridade das membranas celulares (Buettner, 1993).

O palmitato de ascorbil é um derivado anfipático do ácido ascórbico, que mantém suas características antioxidantes (Humeau et al., 1998) e proporciona maior estabilidade molecular (Pinnell, 2002). A absorção do palmitato de ascorbil pelo trato digestório não está bem definida. Ross et al. (1999) afirmam que o palmitato de ascorbil em humanos é todo hidrolisado a ácido ascórbico; no entanto, May et al. (1996) afirmam que o palmitato de ascorbil é parcialmente absorvido na sua forma íntegra. O fornecimento direto dessa forma de vitamina não é muito pesquisado em peixes, e ocorre apenas por intermédio do enriquecimento de plânctons e artêmias, que convertem o palmitato de ascorbil em ácido ascórbico (Merchie et al., 1995, 1997).

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito e a interação entre a suplementação de palmitato de ascorbil e de acetato de tocoferol sobre o desenvolvimento de larvas de dourado (*Salminus brasiliensis*), durante os primeiros dias de alimentação.

Material e Métodos

O experimento foi realizado em 2007, na Estação Ambiental de Volta Grande, da Companhia Energética de Minas Gerais (Cemig), em Conceição das Alagoas, MG, e na Universidade Federal de Lavras (Ufla), Lavras, MG.

Foi adotado o delineamento experimental inteiramente ao acaso, com parcelas subdivididas, e foi utilizado na parcela o arranjo fatorial (2x3), constituído pela combinação de duas concentrações de acetato de tocoferol (0 e 250 mg kg⁻¹) e três concentrações de palmitato de ascorbil (0, 100 e 1.000 mg kg⁻¹) na ração e, nas subparcelas, foram analisados dois períodos de coletas (5 e 15 dias de alimentação).

O experimento foi conduzido com seis tratamentos e quatro repetições, no total de 24 parcelas avaliadas em dois diferentes períodos, e cada parcela foi constituída por 300 larvas de dourado, que foram submetidas a um período experimental de 17 dias, com o fornecimento das rações nos últimos 15 dias.

Foram utilizadas 24 caixas de fibra de vidro com 0,61x0,44x0,40 m de diâmetro superior, diâmetro da base e altura, respectivamente, e capacidade total de 100 L. O canal de abastecimento de água de cada caixa foi coberto por redes de 50 µm, para se evitar a entrada de plâncton. O fluxo de água nas caixas experimentais foi suficiente para a troca total da água em 1 hora de renovação.

Foram utilizadas 7.200 larvas de dourado recém-eclodidas, com $1,03 \pm 0,09$ mg de peso inicial e $0,6 \pm 0,013$ cm de comprimento total, provenientes de reprodutores da Estação Ambiental de Volta Grande. Foi realizada uma triagem, para o descarte das larvas com deformidades ou deficiências natatórias.

Os tratamentos foram compostos por seis diferentes dietas semi-purificadas, isoenergéticas ($4.252 \text{ kcal kg}^{-1}$) e isoprotéicas (57% de proteína bruta) (Tabela 1). O premix vitamínico utilizado na formulação foi manipulado de forma isenta de qualquer fonte das vitaminas C e E. As concentrações reais de palmitato de ascorbil, ácido ascórbico, acetato de tocoferol e alfa-tocoferol presentes na ração estão expressas na Tabela 1.

Possivelmente, os valores encontrados de alfa-tocoferol são provenientes da farinha de peixe utilizada, assim como os valores de palmitato de ascorbil nas rações sem suplementação deste.

Nos dois primeiros dias de vida, as larvas de dourado foram alimentadas com larvas de curimba (*Prochilodus lineatus*), e foi estimado o fornecimento de quatro larvas de curimba para cada larva de dourado a intervalos de 3 horas. A mudança da alimentação viva pela alimentação seca, referente ao período de adaptação alimentar, foi realizada em cinco dias, entre o 3º e o 7º dia de vida das larvas de dourado. A partir do 8º dia de vida, os dourados foram alimentados exclusivamente com as diferentes

rações experimentais, pelo período de dez dias, entre o 8º e o 17º dia de vida. As larvas foram alimentadas diariamente pelo período de 18 horas, com a primeira alimentação fornecida às 7h e a última à 1h.

Para se definir o número de larvas por parcela, a serem coletadas no 7º dia antes da primeira coleta, foi realizada uma estimativa das larvas sobreviventes. Cada coleta amostral, de oito larvas por parcela, representou 16% da população estimada no 7º dia. Foram realizadas duas coletas: a primeira após a adaptação alimentar, com cinco dias de alimentação, e a segunda no final do experimento, com 15 dias de alimentação.

Imediatamente após a coleta, as larvas foram sacrificadas e mantidas em água a 0°C por período não superior a 5 min, tempo suficiente para se avaliarem os parâmetros de desenvolvimento. Após esse período, as larvas foram armazenadas a -20°C para análise da vitamina C.

Os parâmetros limnológicos (pH, temperatura e oxigênio dissolvido) foram medidos diariamente, durante a fase experimental. A mortalidade foi avaliada pela contagem diária das larvas mortas, e pela contagem das larvas remanescentes ao término do experimento. Foram medidos: a altura da cabeça e o comprimento total, segundo Nakatani et al. (2001), e o peso em balança de precisão. As análises de palmitato de ascorbil, alfa-tocoferol e acetato de tocoferol foram realizadas segundo método adaptado de Huo et al. (1996) e Freitas & Moretti

Tabela 1. Composição das rações experimentais.

| Ingrediente | Acetato de tocoferol (mg kg^{-1}) | | | | | |
|--------------------------------------|---|-------|-------|---|-------|-------|
| | 0 | | | 250 | | |
| | Palmitato de ascorbil (mg kg^{-1}) | | | Palmitato de ascorbil (mg kg^{-1}) | | |
| | 0 | 100 | 1.000 | 0 | 100 | 1.000 |
| Farinha de peixe (%) ⁽¹⁾ | 59,5 | 59,5 | 59,5 | 59,5 | 59,5 | 59,5 |
| Albumina (%) | 20,0 | 20,0 | 20,0 | 20,0 | 20,0 | 20,0 |
| Gelatina (%) | 7,0 | 7,0 | 7,0 | 7,0 | 7,0 | 7,0 |
| Óleo vegetal (%) | 8,5 | 8,5 | 8,5 | 8,5 | 8,5 | 8,5 |
| Celulose (%) | 3,2 | 3,1 | 2,2 | 2,95 | 2,85 | 1,85 |
| Fosfato bicálcico (%) | 1,5 | 1,5 | 1,5 | 1,5 | 1,5 | 1,5 |
| Premix mineral (%) | 0,15 | 0,15 | 0,15 | 0,15 | 0,15 | 0,15 |
| Premix vitamínico (%) ⁽²⁾ | 0,15 | 0,15 | 0,15 | 0,15 | 0,15 | 0,15 |
| Antioxidante BHT (%) | 0,025 | 0,025 | 0,025 | 0,025 | 0,025 | 0,025 |
| | Concentrações avaliadas de vitamina C e E (mg kg^{-1}) | | | | | |
| Palmitato de ascorbil | 16 | 115 | 935 | 19 | 117 | 924 |
| Acetato de tocoferol | - ⁽³⁾ | - | - | 244 | 256 | 257 |
| Alfa-tocoferol | 11 | 6 | - | - | 7 | - |
| Ácido ascórbico | - | - | - | - | - | - |

⁽¹⁾Farinha de resíduo da indústria de filetagem de salmão. ⁽²⁾Composição de 50 g do suplemento vitamínico: vitamina D3, 50.000 UI; vitamina A, 200.000 UI; vitamina K, 1.000 mg; vitamina B12, 720 mg; vitamina B1 (tiamina), 720 mg; vitamina B2 (riboflavina), 900 mg; vitamina B6 (piridoxina), 600 mg; biotina, 150 mg; ácido fólico, 180 mg; pantotenato de Ca, 1.800 mg; niacina, 3.600 mg; colina, 40.000 mg. ⁽³⁾Valores não detectados.

(2006). O ácido ascórbico e o deidroascórbico seguem o método modificado de Papp et al. (1998).

As análises das vitaminas C e E, na ração, foram realizadas pela técnica de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), com uma bomba ternária, um injetor automático e um detector espectrofotométrico na região do UV/Vis. Em todas as análises, foi utilizada uma coluna C₁₈ (250x4,6 mm, 5 µm) conectada a uma pré-coluna analítica C₁₈.

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância, com utilização do SISVAR (Ferreira, 2000). As médias foram submetidas ao teste de Student-Newman-Keuls.

Resultados e Discussão

Os parâmetros limnológicos se mantiveram constantes durante todo o período experimental. A temperatura foi mantida em 26,8±2,8°C, e o oxigênio em 5,6±0,98 mg L⁻¹.

Não houve diferença significativa na mortalidade, entre os tratamentos, durante todo o período experimental. As concentrações de palmitato de ascorbil, ácido ascórbico e ácido deidroascórbico, avaliadas no corpo inteiro das larvas de dourado, apresentaram diferença significativa (p < 0,05) entre os tratamentos (Tabela 2).

As concentrações de palmitato de ascorbil, no corpo inteiro das larvas de dourado, foram influenciadas pelo período de alimentação e pela suplementação de

palmitato de ascorbil, com interação significativa entre essas variáveis (Tabela 2). As larvas alimentadas por cinco dias com as rações experimentais apresentaram concentração inferior de palmitato de ascorbil corporal, quando comparadas às larvas alimentadas por 15 dias. As larvas alimentadas por 15 dias apresentaram concentrações crescentes de palmitato de ascorbil corporal, conforme os níveis de suplementação de cada tratamento (0, 100 e 1.000 mg kg⁻¹).

As três concentrações de palmitato de ascorbil suplementadas nas rações influenciaram significativamente as concentrações de ácido ascórbico corporal, cujas médias nos tratamentos suplementados com 100 e 1.000 mg kg⁻¹ de palmitato de ascorbil foram superiores ao tratamento sem suplementação, aos 5 e 15 dias.

A concentração de ácido deidroascórbico corporal foi influenciada pelo período de alimentação, pela suplementação do palmitato de ascorbil e do acetato de tocoferol na ração, no entanto, não houve interação significativa entre essas fontes de variação. A suplementação com 1.000 mg kg⁻¹ de palmitato de ascorbil aumentou a concentração de ácido deidroascórbico nas larvas, em comparação à concentração nas larvas dos tratamentos com 0 e 100 mg kg⁻¹ de palmitato de ascorbil. As larvas que receberam a suplementação do acetato de tocoferol apresentaram média geral de ácido deidroascórbico superior ao das larvas que não a receberam. Quanto

Tabela 2. Concentrações de palmitato de ascorbil, ácido ascórbico e ácido deidroascórbico, determinadas no corpo inteiro das larvas de dourado (*Salminus brasiliensis*), alimentadas com rações com diferentes suplementações de palmitato de ascorbil e acetato de tocoferol, em dois diferentes períodos (5 e 15 dias)⁽¹⁾.

| Acetato de tocoferol (mg kg ⁻¹) | Palmitato de ascorbil (mg kg ⁻¹) | Concentração de vitaminas (µg g ⁻¹) | | | | | |
|---|--|---|---------------|-----------------|--------------|-----------------------|--------------|
| | | Palmitato de ascorbil | | Ácido ascórbico | | Ácido deidroascórbico | |
| | | 5 dias | 15 dias | 5 dias | 15 dias | 5 dias | 15 dias |
| 0 | 0 | 16,18±0,41aB | 17,99±0,91cA | 18,96±1,04bA | 17,31±0,21bA | 8,50±2,51bB | 1,33±0,07bA |
| | 100 | 16,98±0,19aB | 19,10±0,56bA | 19,37±0,22aA | 22,95±2,71aA | 11,20±3,29bB | 2,92±0,46bA |
| | 1.000 | 17,58±0,70aB | 21,43±0,57aA | 20,33±0,92aA | 21,92±1,00aA | 27,56±6,97aB | 13,27±5,91aA |
| Média | | 18,21±0,75 | | 20,14±0,83 | | 10,79±3,84 | |
| 250 | 0 | 16,41±0,35aB | 18,73±0,46cA | 18,08±0,57bA | 18,49±0,77bA | 14,17±5,99bB | 1,79±0,27bA |
| | 100 | 17,15±0,16aB | 20,89±0,52bA | 17,43±0,62aA | 20,31±1,26aA | 17,10±5,79bB | 16,40±2,81bA |
| | 1.000 | 17,51±0,83aB | 22,38±0,25 aA | 19,96±1,34aA | 21,89±1,73aA | 29,48±5,03aB | 22,75±7,11aA |
| Média | | 18,84±0,95 | | 19,36±0,67 | | 16,94±3,77 | |
| CV 1 (%) | | 6,24 | | 11,05 | | 55,76 | |
| CV 2 (%) | | 5,52 | | 13,72 | | 75,49 | |

⁽¹⁾Médias seguidas por letras iguais, minúsculas na coluna, dentro da mesma suplementação de acetato de tocoferol na ração, e maiúsculas na linha, dentro da mesma forma de vitamina C (palmitato de ascorbil, ácido ascórbico ou ácido deidroascórbico), não diferem entre si pelo teste de Student-Newman-Keuls, a 5% de probabilidade; períodos de alimentação: 5 dias – adaptação alimentar – e 15 dias – larvas do 5º dia alimentadas por mais dez dias exclusivamente com as rações experimentais; CV 1 e CV 2 são os coeficientes de variação referentes aos tratamentos com suplementação e aos períodos de alimentação, respectivamente.

ao período de alimentação, observou-se que as larvas mais novas apresentaram médias superiores de ácido deidroascórbico corporal, quando comparadas às larvas do final do experimento.

As concentrações de palmitato de ascorbil corporal, determinadas nas larvas de dourado, comprovaram que o palmitato de ascorbil foi absorvido pelo trato gastrointestinal de peixes sem sofrer variações estruturais. Os mecanismos de absorção e armazenamento do palmitato de ascorbil em peixes são inferências de estudos realizados com humanos e outros animais.

Embora alguns autores cite que o palmitato de ascorbil é totalmente hidrolisado no intestino humano, formando o ácido ascórbico, May et al. (1996) indicam que uma pequena fração é absorvida na sua forma íntegra e atua em meio lipídico no metabolismo. Pokorski et al. (2003, 2004) observaram, em gatos, a deposição do palmitato de ascorbil após o fornecimento na dieta, e demonstraram que parte do palmitato de ascorbil foi absorvido pelo trato gastrointestinal e depositado sem sofrer mudanças estruturais, similarmente ao ocorrido no presente trabalho. Entretanto, provavelmente a maior parte do palmitato de ascorbil absorvido, na forma de ácido ascórbico derivado da hidrolização do palmitato de ascorbil, resultou nas maiores concentrações de ácido ascórbico nas larvas de dourado, alimentadas com rações com a suplementação de 100 e 1.000 mg kg⁻¹ de palmitato de ascorbil.

A maioria dos estudos sobre o palmitato de ascorbil, como fonte de vitamina C para larvas de peixe, foi realizada com alimentos vivos enriquecidos com o palmitato de ascorbil. Os alimentos vivos como a *Artemia salina* apresentam grande capacidade em converter o palmitato de ascorbil em ácido ascórbico (Merchie et al., 1995, 1997). Assim como as artêmias, as larvas de peixe demonstraram a mesma capacidade.

Em humanos, após a ingestão, o palmitato de ascorbil é hidrolisado pelas lipases pancreáticas, que disponibilizam uma molécula ativa de ácido ascórbico (Pizarro et al., 2006). Essas enzimas podem ter sido responsáveis pelo aumento do ácido ascórbico corporal, observado nas larvas que receberam os tratamentos suplementados com 100 e 1.000 mg kg⁻¹ de palmitato de ascorbil, quando comparadas às larvas que não receberam suplementação deste nutriente.

A suplementação de palmitato de ascorbil pode ter influenciado as concentrações de ácido deidroascórbico, por disponibilizar maiores concentrações de ácido

ascórbico corporal. Esse aumento é consequência da maior disponibilidade de vitamina C no metabolismo do peixe, oxidada em ácido deidroascórbico, como observado no tratamento com 1.000 mg kg⁻¹ palmitato de ascorbil. Park et al. (2006) observaram que as concentrações de ácido deidroascórbico aumentaram em *Piaractus mesopotamicus* alimentados com rações com níveis crescentes de vitamina C, o que mostra que as concentrações de vitamina C aumentaram as concentrações de ácido deidroascórbico.

Houve também o efeito da vitamina E sobre as concentrações do ácido deidroascórbico. O tocoferol é oxidado por diferentes radicais livres e forma o tocoferil, que são moléculas de vitamina E com potencial oxidante, o que caracteriza o efeito antagônico da vitamina E, quando suplementada em altas concentrações, denominado de pró-oxidante metabólico. Esses radicais são reduzidos em tocoferol por outros antioxidantes presentes no metabolismo, principalmente o ácido ascórbico em meio aquoso (Bowry et al., 1992).

O sinergismo entre o ácido ascórbico e o tocoferol é fundamentado na teoria proposta por Tappel, em 1962, que atribui ao ácido ascórbico o potencial de regenerar os radicais tocoferil em alfa-tocoferol e com isso formar o ácido deidroascórbico (Hamre et al., 1997).

As concentrações de ácido deidroascórbico, observadas nas larvas de dourado, demonstram que a vitamina E aumentou a oxidação do ácido ascórbico em ácido deidroascórbico, o que caracterizou o efeito de pró-oxidante da vitamina E, relatado por Bowry et al. (1992). Provavelmente a suplementação com 250 mg kg⁻¹ de acetato de tocoferol foi excessiva para a larvicultura do dourado. Esses resultados estão de acordo com os encontrados por Chen et al. (2004), ao estudar *Notemigonus crysoleucas*, que observaram aumento significativo nas concentrações de ácido deidroascórbico em juvenis alimentados com dietas suplementadas com vitamina E, em comparação aos sem suplementação.

Todos os parâmetros de desenvolvimento analisados apresentaram diferença significativa apenas para as suplementações de palmitato de ascorbil (0, 100 e 1.000 mg kg⁻¹) e para os dois períodos avaliados (5 e 15 dias de alimentação). O acetato de tocoferol não influenciou nenhuma das três medidas utilizadas para avaliação do desempenho.

No 5º dia de alimentação com as rações experimentais, não houve diferença significativa entre as médias do

comprimento total nem do peso das larvas (Tabela 3). No entanto, com 15 dias de alimentação, as larvas dos tratamentos com suplementação de 100 e 1.000 mg kg⁻¹ de palmitato de ascorbil apresentaram, em ambos os parâmetros, médias superiores ao tratamento sem suplementação.

Em um curto período de alimentação (cinco dias), o palmitato de ascorbil foi eficiente em aumentar a altura da cabeça, nas larvas do tratamento suplementado com 1.000 mg kg⁻¹ de palmitato de ascorbil, comparado ao tratamento com 100 mg kg⁻¹ de suplementação (Tabela 3). No 15^a dia, as médias de altura da cabeça aumentaram conforme as concentrações crescentes de palmitato de ascorbil na ração.

Xie & Niu (2006) citam que a vitamina C está envolvida em diversos sistemas enzimáticos, é necessária para a formação do colágeno e do tecido conectivo e que ambos são essenciais para um rápido desenvolvimento. Esses autores estudaram juvenis de *Plecoglossus altivelis* e observaram alta interação entre a produção de hidroxiprolina e as concentrações de ácido ascórbico.

Outro fator relacionado ao desenvolvimento é a biossíntese da carnitina, que é dependente do ascorbato, conforme Ozório (2001). O'Keefe (2001) descreve que a vitamina C é responsável pela hidrólise da carnitina em peixes. Seguindo a mesma hipótese, Ji et al. (2003) afirmam que a vitamina C e os ácidos graxos

de cadeia longa exercem importante papel na lipólise em peixes.

Chagas & Val (2003) observaram que concentrações superiores a 100 mg kg⁻¹ de vitamina C não surtiram efeito sobre o ganho de peso em *Colossoma macropomum*, e Li et al. (1998) encontraram a concentração máxima de dose por resposta equivalente a 50 mg kg⁻¹ para "catfish". Gouillou-Coustans et al. (1998) não detectaram respostas no crescimento de *Cyprinus carpio* a concentrações superiores a 90 mg kg⁻¹.

As larvas de dourado apresentaram respostas semelhantes, pois doses superiores a 100 mg kg⁻¹ de palmitato de ascorbil não apresentaram diferença significativa para o comprimento e o peso final. No entanto, a altura da cabeça demonstrou ser mais sensível às concentrações de vitamina C na larvicultura, visto que apresentou resposta aos tratamentos com 5 dias de alimentação e, com 15 dias, respondeu à dose maior de palmitato de ascorbil. As cabeças das larvas de dourado apresentam rápido desenvolvimento inicial, superam o crescimento e o peso (Nakatani et al., 2001) e podem estar mais susceptíveis ao efeito dos tratamentos nos primeiros dias de vida.

Conclusões

1. O palmitato de ascorbil pode ser utilizado como fonte de vitamina C para larvas de dourado.
2. A altura da cabeça, no período inicial de desenvolvimento de dourados, é mais sensível à suplementação de vitamina C, quando comparada ao peso e ao comprimento total.
3. O palmitato de ascorbil pode ser absorvido na sua forma lipofílica.
4. Durante o desenvolvimento inicial dos dourados, a suplementação com 250 mg kg⁻¹ de acetato de tocoferol exerce ação oxidante na vitamina C e não influencia os parâmetros de desenvolvimento avaliados.

Agradecimentos

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, pelo suporte financeiro; ao Instituto Estadual de Floresta, pelo financiamento do projeto; aos funcionários da Companhia Energética de Minas Gerais, pelo apoio.

Tabela 3. Comprimento total, altura da cabeça e peso das larvas de dourado (*Salminus brasiliensis*), alimentadas com ração com diferentes suplementações de palmitato de ascorbil, nos períodos de 5 e 15 dias de alimentação⁽¹⁾.

| Palmitato de ascorbil (mg kg ⁻¹) | Período de fornecimento das rações experimentais | |
|---|---|--------------|
| | 5 dias | 15 dias |
| Comprimento total (cm) | | |
| 0 | 2,851±0,138a | 3,931±0,233b |
| 100 | 2,867±0,116a | 4,235±0,137a |
| 1.000 | 3,025±0,150a | 4,333±0,235a |
| Altura da cabeça (cm) | | |
| 0 | 0,552±0,026ab | 0,717±0,036c |
| 100 | 0,542±0,035b | 0,751±0,026b |
| 1.000 | 0,580±0,034a | 0,788±0,047a |
| Peso (g) | | |
| 0 | 0,211±0,028a | 0,619±0,103b |
| 100 | 0,193±0,034a | 0,719±0,077a |
| 1.000 | 0,233±0,038a | 0,741±0,110a |

⁽¹⁾Médias seguidas por letras iguais, na coluna, dentro do mesmo período de alimentação, não diferem entre si pelo teste de Student-Newman-Keuls, a 5% de probabilidade; CV = 18,43%.

Referências

- BOWRY, V.W.; INGOLD, K.U.; STOCKER, R. Vitamin E in human low-density lipoprotein: when and how this antioxidant becomes a pro-oxidant. **Biochemical Journal**, v.288, p.341-344, 1992.
- BUETTNER, G.R. The pecking order of free radicals and antioxidants: lipid peroxidation, α -tocopherol, and ascorbate. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v.300, p.535-543, 1993.
- CHAGAS, E.C.; VAL, A.L. Efeito da vitamina C no ganho de peso e em parâmetros hematológicos de tambaqui. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.38, p.397-402, 2003.
- CHEN, R.; LOCHMANN, R.; GOODWIN, A.; PRAVEEN, K.; DABROWSKI, K.; LEE, K.J. Effects of dietary vitamins C and E on alternative complement activity, hematology, tissue composition, vitamin concentrations and response to heat stress in juvenile golden shiner (*Notemigonus crysoleucas*). **Aquaculture**, v.242, p.553-569, 2004.
- FERREIRA, D.F. **Sistema SISVAR para análises estatísticas: manual de orientação**. Lavras: Ufla, 2000. 37p.
- FRACALOSSO, D.M.; MEYER, G.; SANTAMARIA, F.M.; WEINGARTNER, M.; ZANIBONI-FILHO, E. Desempenho do jundiá, *Rhamdia quelen*, e do dourado, *Salminus brasiliensis*, em viveiros de terra na região Sul do Brasil. **Acta Scientiarum: Animal Sciences**, v.26, p.345-352, 2004.
- FREITAS D.G.C.; MORETTI, R.H. Caracterização e avaliação sensorial de barra de cereais funcional de alto teor protéico e vitamínico. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.26, p.318-324, 2006.
- GOUILLOU-COUSTANS, M.-F.; BERGOT, P.; KAUSHIK, S.J. Dietary ascorbic acid needs of common carp (*Cyprinus carpio*) larvae. **Aquaculture**, v.161, p.453-461, 1998.
- HAMRE, K.; WAAGBO, R.; BERGE, R.K.; LIE, O. Vitamins C and E interact in juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). **Free Radical Biology and Medicine**, v.22, p.137-149, 1997.
- HUMEAU, C.; GIRARDIN, M.; ROVEL, B.; MICLO, A. Enzymatic synthesis of fatty acid ascorbyl esters. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v.5, p.19-23, 1998.
- HUO, J.Z.; NELIS, H.J.; LAVENS, P.; SORGELOOS, P.; LEENHEER, A.P. Determination of vitamin E in aquatic organisms by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. **Analytical Biochemistry**, v.242, p.123-128, 1996.
- JI, H.; OM, A.D.; YOSHIMATSU, T.; HAYASHI, M.; UMINO, T.; NAKAGAWA, H.; ASANO, M.; NAKAGAWA, A. Effect of dietary vitamins C and E fortification on lipid metabolism in red sea bream *Pagrus major* and black sea bream *Acanthopagrus schlegelii*. **Fisheries Science**, v.69, p.1001-1009, 2003.
- KUBITZA, F. **Nutrição e alimentação dos peixes cultivados**. Campo Grande: Projeto Pacu/Agropeixe, 1998. 108p.
- LEE, K.J.; DABROWSKI, K. Interaction between vitamins C and E affects their tissue concentrations, growth, lipid oxidation, and deficiency symptoms in yellow perch (*Perca flavescens*). **British Journal of Nutrition**, v.89, p.589-596, 2003.
- LI, M.H.; WISEA, D.J.; ROBINSON, E.H. Effect of dietary vitamin C on weight gain, tissue ascorbate concentration, stress response, and disease resistance of channel catfish *Ictalurus punctatus*. **Journal of the World Aquaculture Society**, v.29, p.1-8, 1998.
- LUZ, R.K.; ZANIBONI-FILHO, E. Larvicultura do mandi-amarelo *Pimelodus maculatus* Lacépède, 1803 (Siluriformes: Pimelodidae) em diferentes densidades de estocagem nos primeiros dias de vida. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.31, p.560-565, 2002.
- MAI, M.G.; ZANIBONI-FILHO, E. Efeito da idade de estocagem em tanques externos no desempenho da larvicultura do dourado *Salminus brasiliensis* (Osteichthyes, Characidae). **Acta Scientiarum: Animal Sciences**, v.27, p.287-296, 2005.
- MAY, J.M.; QU, Z.; COBB, C.E. Accessibility and reactivity of ascorbate 6-palmitate bound to erythrocyte membranes. **Free Radical Biology and Medicine**, v.21, p.471-480, 1996.
- MERCHIE, G.; LAVENS, P.; RADULL, J.; NELIS, H.; LEENHEER, A.; SORGELOOS, P. Evaluation of vitamin C-enriched *Artemia* nauplii for larvae of the giant freshwater prawn. **Aquaculture International**, v.3, p.355-363, 1995.
- MERCHIE, G.; LAVENS, P.; VERRETH, J.; OLLEVIER, F.; NELIS, H.; DE LEENHEER, A.; STORCH, V.; SORGELOOS, P. The effect of supplemental ascorbic acid in enriched live food for *Clarias gariepinus* larvae at startfeeding. **Aquaculture**, v.151, p.245-258, 1997.
- NAKATANI, K.; AGOSTINHO, A.A.; BAUMGARTNER, G.; BIALETZKI, A.; SANCHES, P.V.; MAKRAKIS, M.C.; PAVANELLI, C.S. **Ovos e larvas de peixes de água doce**. Maringá: Universidade Estadual de Maringá, 2001. 378p.
- O'KEEFE, T. Ascorbic acid and stable ascorbate esters as sources of vitamin C in aquaculture feeds. **ASA Technical Bulletin**, v.48, p.1-9, 2001.
- OZÓRIO, R.O.A. **Dietary L-carnitine and energy and lipid metabolism in African catfish (*Clarias gariepinus*) juveniles**. 2001. 135p. Thesis (Ph.D.) - Wageningen University, Wageningen.
- PAPP, Z.G.; SAROGLIA, M.; TEROVA, G. An improved method for assay of vitamin C in fish feed and tissues. **Chromatographia**, v.48, p.43-47, 1998.
- PARK, K.H.; TERJESEN, B.F.; TESSER, M.B.; PORTELLA, M.C.; DABROWSKI, K. α -Lipoic acid-enrichment partially reverses tissue ascorbic acid depletion in pacu (*Piaractus mesopotamicus*) fed vitamin C-devoid diets. **Fish Physiology and Biochemistry**, v.32, p.329-338, 2006.
- PINNELL, S.R. Ascorbyl 6-palmitate is not ascorbic acid. **The Society for Investigative Dermatology**, v.119, p.991, 2002.
- PIZARRO, F.; OLIVARES, M.; HERTRAMPF, E.; NUÑEZ, S.; TAPIA, M.; CORI, H.; ROMANA, D.L. Ascorbyl palmitate enhances iron bioavailability in iron-fortified bread. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.84, p.830-834, 2006.
- POKORSKI, M.; MARCZAK, M.; DYMECKA, A.; SUCHOCKI, P. Ascorbyl palmitate as a carrier of ascorbate into neural tissues. **Journal of Biomedical Science**, v.10, p.193-198, 2003.
- POKORSKI, M.; RAMADAN, A.; MARCZAK, M. Ascorbyl palmitate augments hypoxic respiratory response in the cat. **Journal of Biomedical Science**, v.11, p.465-471, 2004.

ROSS, D.; MENDIRATTA, S.; QU, Z.; COBB, C.E.; MAY, J.M. Ascorbate 6-palmitate protects human erythrocytes from oxidative damage. **Free Radical Biology and Medicine**, v.26, p.81-89, 1999.

SMITH, G.G.; BROWN, M.R.; RITAR, A.J. Feeding juvenile *Artemia* enriched with ascorbic acid improves larval survival in the spiny lobster *Jasus edwardsii*. **Aquaculture Nutrition**, v.10, p.105-112, 2004.

TOCHER, D.R.; MOURENTE, G.; EECKEN, A.V.D.; EVJEMO, J.O.; DIAZ, E.; BELL, J.G.; GEURDEN, I.; LAVENS, P.; OLSEN, Y. Effects of dietary vitamin E on antioxidant defense mechanisms of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L.), halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.) and sea bream (*Sparus aurata* L.). **Aquaculture Nutrition**, v.8, p.195-207, 2002.

XIE, Z.; NIU, C. Dietary ascorbic acid requirement of juvenile ayu (*Plecoglossus altivelis*). **Aquaculture Nutrition**, v.12, p.151-156, 2006.

Recebido em 24 de janeiro de 2008 e aprovado em 7 de julho de 2008